

SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒 (高 GC)

SYBR Green Premix Pro Taq HS qPCR Kit (GC rich)

Code No. AG11759

包装量:	500 rxns / 20 μ l
保存温度:	-20 $^{\circ}$ C

产品概述

本产品是利用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 qPCR 的试剂盒，是一种 2X premix 型试剂，反应液配制十分简单，仅需加入引物、模板及 RNase free water 即可。本产品对 SYBR Green I 浓度及 PCR 反应体系都进行了优化，并添加了相关辅助蛋白，大大提升了复杂模板（如 GC 含量大于 60%）的扩增性能，对普通 GC 含量的模板也具有好的扩增性能，同时本产品采用了反应性能优越的 Pro Taq HS DNA polymerase 体系，能够有效抑制非特异性产物的扩增，提高 PCR 扩增效率，可以进行高灵敏度的 Real Time PCR 反应，在宽广的定量区域内得到良好的标准曲线，从而对靶基因进行准确定量、检测。

保存及运输

保存温度：-20 $^{\circ}$ C 保存（避光保存）
 运输温度：干冰运输或 -20 $^{\circ}$ C 冰袋运输

产品组成

2X SYBR Green Pro Taq HS Premix (GC rich)*	1 ml X 5 pcs
--	--------------

*：溶液在 -20 $^{\circ}$ C 存放时可能会产生白色或淡黄色的沉淀，使用前可于冰上溶解或手握溶解，颠倒混匀至沉淀全部消失。请勿涡旋振荡。

实验操作

（以 ABI QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Systems 为例）

反应体系*1

组分名称	20 μ l 体系	50 μ l 体系
2X SYBR Green Pro Taq HS Premix (GC rich) ^{*2}	10 μ l	25 μ l
Template ^{*3}	\leq 100 ng	\leq 250 ng
Primer F (10 μ M) ^{*4}	0.4 μ l	1 μ l
Primer R (10 μ M) ^{*4}	0.4 μ l	1 μ l
ROX Reference Dye (4 μ M) ^{*5}	0.4 μ l	1 μ l
RNase free water	up to 20 μ l	up to 50 μ l

*1：请按照不同仪器推荐反应体系配制反应液。

*2：产品避免反复冻融，防止酶活降低；使用前可上下颠倒混匀，请勿涡旋振荡混匀；产品中含有 SYBR Green I，操作过程中注意避光。

*3：在 20 μ l 体系里，DNA 模板添加量通常在 100 ng 以下，必要时可以将模板 DNA 进行稀释，以确定合适的模板添加量。如果使用本制品进行 cDNA 的定量 PCR 扩增，cDNA 原液使用体积不要超过定量 PCR 反应总体积的 10%。

*4：引物通常使用终浓度为 0.2 μ M 可以达到较好的扩增效果；如果扩增效率低可提升引物用量至 0.4 μ M；如果存在非特异性扩增可降低引物用量；也可以根据扩增情况在 0.1 ~ 1.0 μ M 范围内调整。



*5: 若所选仪器需要使用 ROX 进行荧光信号校准, 请按照仪器推荐量添加; 若所选仪器不需要使用 ROX 进行荧光信号校准, ROX Reference Dye 可使用 RNase free water 代替。

qPCR 反应条件 *1 (两步法PCR反应程序)

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	30 sec ^{*2}	1
变性	95°C	5 sec	} 40
退火和延伸 ^{*4}	60°C	30 sec ^{*3}	
熔解曲线采集步骤	Dissociation stage		

*1: 建议首先采用两步法 PCR 反应程序, 如果得不到良好的实验结果时再优化反应条件; 如果引物 Tm 值较低, 导致两步法扩增效率较差, 可采用三步法进行 PCR 扩增。

*2: 预变性时间通常设定为 30 sec, 如果模板变性困难, 可以延长预变性时间至 1~2 min。

*3: 通常情况下 PCR 扩增产物建议设计在 200 bp 以下。扩增延伸反应条件设定为 60°C、30 sec 时可以满足要求; 如需提高反应特异性, 可适当提高退火温度; 如需提高扩增效率, 或者 PCR 扩增产物较长, 则可将反应延伸时间适当延长, 同时也可尝试进行三步法 PCR 扩增 (三步法 PCR 反应程序可参考附录)。

*4: 此步骤进行荧光信号值采集。

➤ 结果检测

反应结束后, 确认扩增曲线, 并进行标准曲线分析。
(分析方法请参照仪器操作手册)

➤ 附录: 三步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	30 sec	1
变性	95°C	5 sec	} 40
退火	55°C	30 sec	
延伸 ^{*1}	72°C	30 sec	
熔解曲线采集步骤	Dissociation stage		

*1: 此步骤进行荧光信号值采集。

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.